

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

- 1.a) Improvement approach of skin condition which comes to contain putting supporters permitted on physiology to magnetic vector potential field, and, prescribing by this exposure supporters for the patient subsequently to the skin.
- 2.a) Improvement approach of skin condition which comes to contain manufacturing supporters who give these supporters information energy directly and contain information energy while putting supporters permitted on physiology to magnetic vector potential field and putting these supporters to magnetic vector potential field, and, prescribing by this information energy content supporters for the patient subsequently to the skin.
3. It is said approach manufactured by putting the supporters who are the improvement approaches of the skin condition by medicating the skin with the supporters permitted on physiology, and by whom these supporters are permitted on physiology here to a magnetic vector potential field.
4. It is said approach manufactured by giving these supporters information energy directly while it is the improvement approach of the skin condition by medicating the skin with the supporters permitted on the physiology containing information energy, and these supporters put the supporters permitted on physiology to a magnetic vector potential field here and these supporters are put to the magnetic vector potential field.
5. Approach according to claim 1, 2, 3, or 4 of being that said improvement makes collagen content of the skin increase.
6. Approach according to claim 1, 2, 3, or 4 which has said supporters in gaseous phase, the liquid phase, solid phase, or liquid crystal phase.
7. Approach according to claim 6 which has said supporters in the liquid phase or liquid crystal phase.
8. Approach according to claim 7 which has said supporters in the liquid phase.
9. Approach according to claim 7 said liquid phase comes to contain water.
10. The approach according to claim 9 said liquid phase comes to contain a sodium chloride and a magnesium chloride.
11. The approach according to claim 9 said liquid phase comes to contain iron ion and calcium ion.
12. The approach according to claim 1, 2, 3, or 4 put to a magnetic vector potential field when it is formed with the two-set magnet with which each set consists [said magnetic vector potential field] of two or more magnets with which N pole and the south pole were arranged in parallel by turns, and which faced each other and supporters are placed between the magnet set which faced each other.
13. The approach according to claim 12 said supporters pass WEKKUROMA biotechnology tolani sir equipment once [at least].
- The approach according to claim 2 or 4 of giving these supporters information energy directly using at least one WEKKUROMA rod chosen from the group which consists of 14,1200,7, 622, 232, 7509, 326, 329, FIBURO 1, and FIBURO 2.
15. The approach according to claim 14 of giving these supporters information energy directly using at

BEST AVAILABLE COPY

least one WEKKUROMA rod number 232.

16. The approach according to claim 15 these supporters pass the WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment which forms a magnetic vector potential field and contains at least one WEKKUROMA rod number 232 once [at least].

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

The improvement approach of skin condition Field of invention This invention relates to supporters' (substrate) activity permitted on the physiology containing cosmetics and the information energy of medical application in more detail about the field of a homeopathy therapy (homeopathic treatments).

Background of invention The homeopathy is explained to copy on supporters the information which exists in the quality of a natural product, for example, a herb, (herbs), an antibody, or the molecular structure of pollen or the information from a pattern, for example, the oscillating pattern and combination of different vibration frequency. Subsequently, a desired response can be attained using the supporters who have the pattern built into the information or them which were copied. For example, in homeopathy medicine, a desired response may be relief of a hay fever patient's allergy symptom.

K.E. In U.S. Pat. No. 5,138,172 of Werner Kropp, the approach of giving information energy is taught to supporters, such as a physiological saline and oil, by putting the supporters to a magnetic vector potential field (magnetic vector potential filed). K.E. In U.S. Pat. No. 5,012,110 of Werner Kropp, the manufacture approach of the synthetic homeopathy supporters by placing the supporters between the magnet sets which faced each other is taught.

J.J.C. WO91.10450 released to the No. 2,634,381 official report of the France patent application and July 25, 1991 which were released on January 26, 1990 of Morez — a transmitter-receiver — the ingredient of the large quantity of water etc. — the electromagnetism of a homeopathy remedy — the approach of manufacturing a lot of homeopathy medicine is taught by transmitting information.

The object of this invention is offering the new approach of using the supporters permitted on the physiology containing the information energy for improving skin condition in order to use it for cosmetics.

Another object of this invention is offering the new approach of using the supporters permitted on the physiology containing the information energy used for homeopathy medicine.

Outline of invention This invention relates to an activity of supporters, such as support permitted on the aquosity salting in liquid and massage oil which were put to information energy, such as an oscillating pattern modeled after being discovered by the natural herb, or other galenical pharmacy. Generally, these supporters may be in a gaseous phase, the liquid phase, solid phase, or a liquid crystal phase. This aquosity salting in liquid may contain a sodium chloride, a magnesium chloride, the dissolved iron ion, and calcium ion.

The supporters containing information energy can be used and skin condition can be improved by medicating the skin with these supporters locally. Although skin condition is not limited, the desiccation skin, zero cis- (zerosis), ichthyosis — advancing — the chloasma, the karatosis, the melasma, a lentigo, aging spots, a chloasma, and a pigment freckle — A wrinkling, a blemish, a skin line (skin lines), the oily skin skin, the acne, The pawl which requires the skin change accompanying a wart, eczema, the pruritus skin, psoriasis, an inflammatory dermatosis, a keratinization failure, and aging, cleanser, conditioning, or a

treatment, the skin, and the hair and the scalp which require a shampoo and conditioning are meant. This invention offers the special approach to which incorporation of the proline in Homo sapiens skin fibrocyte is made to increase by contacting a cell to the supporters permitted on the physiology containing information energy.

The increment in proline incorporation is the index of collagen composition of these cells, and is an advantage on the desirable cosmetics which is one path of improving skin condition. Fibrocyte is in dermis and achieves many functions. That is, for example, a collagen, an elastin, and glycosaminoglycans (GAGS) are compounded. A proline is amino acid which is the indispensable part of collagen structure. By proving the increment in the total amount of proline incorporation, this invention persons prove the increment in the total amount of the compounded collagen. A collagen and elastins are two sorts of protein seen by the dermis kept to the stiffness and elasticity of the skin. The young and healthy skin has these two sorts of protein in abundance. The process which compounds such protein falls with aging of the body. Therefore, the total amount of a collagen/elastin decreases like a senior, and the health of the skin falls.

The increment in the amount of the collagen/elastin in the dermis by this invention brings about an improvement of skin condition.

Furthermore, this invention offers the special method of manufacturing the supporters permitted on the physiology containing information energy. It includes that this method gives the information energy of desired vibration frequency to the supporters put on specific arrangement in the magnetic field which is generally indicated by U.S. Pat. No. 5,012,110 of KE.Werner Kropp, and No. 5,138,172, and is called a magnetic vector potential field. Equipment for giving supporters this information energy, Two-set magnet which comes to contain two or more magnets which are put to a magnetic vector potential field when a supporters are placed between the magnet set which faced each other, and with which N pole and the south pole were arranged in parallel for each set by turns and which faced each other, When b supporters are put on this magnetic vector potential in the hall, it comes to have a means to give these supporters information energy.

Grant of the information energy to supporters is the following property. : 1200.7 Anti-oxidant BHT N-acetyl cystine beta Kalla Teng (Caraten) 622 SERYU light 232 Recovery (revitalization) of collagen composition, balance of a rod (Balancing Rods) 7509 Neutralization of a free radical 326 Inhibition of bacteria growth 329 Inhibition FIBURO 1 of bacteria growth Stimulus FIBURO 2 of fibrocyte It is attained by putting to the WEKKUROMA rod (Wekroma rods) which has a stimulus of fibrocyte.

As for supporters, it is desirable to be put to the above-mentioned WEKKUROMA rod by the activity of the WEKKUROMA biotechnology tolansir (Wekroma Bio-Transer) equipment with which the supporters pass the equipment once at least. these supporters — each — or it may combine and you may put to a rod.

In addition, this invention puts the supporters permitted on a physiology to a magnetic vector potential field, and offers the improvement approach of the skin condition characterized by medicating the skin with the supporters who subsequently did b exposure of. In this way, exposure of the supporters to the magnetic vector potential field like those without grant of information energy and the above-mentioned magnet set is enough to obtain the processing supporters who can improve skin condition. One desirable method of processing these supporters by the magnetic vector potential field is letting it pass once at least to the WEKKUROMA biotechnology tolansir equipment with which neither of the WEKKUROMA rods in the equipment stations supporters.

Easy explanation of a drawing Drawing 1 is biotechnology tolansir equipment which can come to hand from WEKKU roamer VATORIEBU Switzerland (Wekroma-Vertrieb Schweiz).

Drawing 2 is a graph which shows the relation between lifting of the concentration of the body booster (Body Booster) mineral water processed with WEKKUROMA biotechnology tolansir equipment, and the increment in the proline level in Homo sapiens skin fibrocyte.

Detailed explanation of a desirable example The format which puts supporters to information energy is generally indicated by WO 91 and 10450 of U.S. Pat. No. 5,138,172 of KE.Werner Kropp, U.S. Pat. No.

5,012,110 of KE.Werner Kropp, the France patent application No. 2,634,381 official report of J.J.C.Morez, and J.J.C.Morez. Generally these supporters are in a gaseous phase, the liquid phase, solid phase, or a liquid crystal phase.

One alteration equipment (arrangement) which puts a water solution to information energy is based on the activity of the WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment purchased from Beat Lanz, 6313 Menzingen, and WEKKU roamer VATORIEBU Switzerland in the Federal Republic of Germany. It has arranged to the WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment in which the rod number 232 supplied by WEKKUROMA is shown by drawing 1. Biotechnology tolan sir equipment was passed for the test tube containing a water solution through channel opening. Although it is not clear whether the residence time which has the solution in this biotechnology tolan sir equipment is serious, it is the range for 1 second thru/or less than several seconds typically. The rate at which a test tube passes this biotechnology tolan sir equipment is a rate in which it carries out free fall typically. The residence time and the rate of passage are controllable by letting a solution pump pass to this biotechnology tolan sir equipment at the rate of the specification which controlled both sides.

Example 1 It is shown below how the brine solution processed with WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment stimulates incorporation of the proline by Homo sapiens skin fibrocyte.

A 0.4g sodium chloride and a 0.4g magnesium chloride are added to 1.99.2g sterile distilled water. It stirs at a room temperature until a solid dissolves and a transparent solution is obtained.

2. The solution obtained at the process 1 was equally divided into five, and it saved within the sterilization test tube.

3. It left the sample number 1, without processing, and it was used as contrast for comparing with other processing samples.

4. As the rod number 232-1 (it supplies from WEKKUROMA) was shown in drawing 1 of an attached drawing, it has arranged to WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment.

5. Subsequently, it let it pass to the biotechnology tolan sir as shown with the drawing of one attachment at the test tube containing sterilization salting in liquid. This procedure was repeated twice. Then, this sample was taken.

6. Subsequently, the rod number 232-1 was installed in ejection from the biotechnology tolan sir, and the rod number 232-2 was installed into this biotechnology tolan sir. It let another test tube containing sterilization salting in liquid pass to the biotechnology tolan sir like a process 5.

7. Said procedure was repeated until the remaining test tubes were processed (the sample number 4 was processed by the rod number 232-3, and processed the sample number 5 by the rod number 232-4). The rod number 232-1, and 2, 3 and 4 are the same mutual duplicates.

8. The proline incorporation trial was presented with all the samples. The result has suggested that the increment to which all samples exceed a contrast culture medium was shown. WEKKUROMA processing salting in liquid (sample numbers 2 and 5) showed the significant increment on the statistics exceeding a sample 1 (salting in liquid which was not processed with WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment).

The protocol of a proline incorporation trial is as follows. Two confluent 24 well plates were processed with this sample solution. Unsettled salting in liquid contrast was added so that it might become 1, 5, and 10% concentration. The solution of the same ingredient was authorized by the same concentration as through contrast for the rod number 232. Assay of each sample was carried out 3 times (inch triplicate). Subsequently, the indicator of this sample was carried out by 1microcurie [/ml] 3H proline by adding 1microper well ml I respectively. The plate was incubated over five days and this procedure was repeated in the meantime. The plate was authorized about the amount of nature incorporation of total protein after processing incubation termination. each plate -- the 1ml ice-cooling PBS -- subsequently it washed for 10 minutes by the 1ml ice-cooling TCA. TCA washing was repeated every 5 twice. Subsequently, each plate was washed and dried by 1ml MeOH. Then, protein was solubilized in 0.3M NaOH and shaken quietly for 0.5 hours. Supernatant liquid was collected and, in addition to SHINCHIRANTO (scintillant), it measured with the liquid scintillation counter.

Example 2 It is shown below how the specific mineral water processed with WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment stimulates incorporation of the proline by Homo sapiens skin fibrocyte.

As indicated in the example 1, the body booster mineral water which has the presentation mentioned to a table 1 was processed with the WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment which uses the WEKKUROMA rod number 232.

In advance of addition of mineral water, the indicator of the three confluent 24 well plates was carried out by 1microcurie [/ml] 3H proline. It examined using the body booster mineral water processed with WEKKUROMA biotechnology tolan sir equipment, using unsettled mineral water as contrast.

each sample — 0. — it authorized 3 times using 1, 0.5, and 1% concentration. Before authorizing a plate about the quality of total protein, it incubated over the weekend. this time — each plate — the 1ml ice-cooling PBS — subsequently it washed for 10 minutes by the 1ml ice-cooling TCA. TCA washing was repeated every 5 twice. Subsequently, each plate was washed and dried by 1ml MeOH. Then, protein was solubilized in 1%SDS content 0.3M NaOH, and was shaken quietly for 0.5 hours. Supernatant liquid was collected and, in addition to SHINCHIRANTO, it measured with the liquid scintillation counter.

The increment in a proline count (count) was accepted about WEKKUROMA processing body booster mineral water. a dosage anaclitic increment sees — having — 0. — 1, 0.5, and 1% concentration made protein increase to each 3 and 17 and 27%. Refer to a table 2 and drawing 2. The result about 0.5 and 1% dosage was significant on statistics, and P values were 0.02 and 0.03 respectively.

Example 3 It is shown that body booster mineral water itself makes incorporation of a proline increase to below. However, as the outline was shown in the example 1, as a result of processing this mineral water with the WEKKUROMA tolan sir equipment using the rod number 232, incorporation of a higher proline breaks out as compared with unsettled mineral water. Processing of this mineral water in the WEKKUROMA tolan sir equipment using the rod number 1200.7 did not make incorporation of a proline increase more than contrast.

Various processings in which the body boosters which consist of a :WEKKUROMA rod number 232 which is the following and processed two confluent 24 well plates, and 1200.7 differ.

Body booster 1 contrast was added so that it might become 1, 5, and 10%. The same ingredient was authorized by through and the same concentration to the rod number 232 and 1200.7. Each sample was authorized 3 times.

subsequently, this sample — each — a well — by adding 1microper ml l, the indicator was carried out by 1microcurie [/ml] 3H proline. The plate was incubated over five days and this procedure was repeated in the meantime. The plate was authorized about the amount of nature incorporation of total protein after processing incubation termination. each plate — the 1ml ice-cooling PBS — subsequently it washed for 10 minutes by the 1ml ice-cooling TCA. TCA washing was repeated every 5 twice. Subsequently, each plate was washed and dried by 1ml MeOH. Then, protein was solubilized in 0.3M NaOH and shaken quietly for 0.5 hours. Supernatant liquid was collected and, in addition to SHINCHIRANTO, it measured with the liquid scintillation counter.

Although the body booster made incorporation increase by 52% and brought about the increase of 12% from the unsettled group when it processed with a rod 232, on the other hand, it was equivalent to the unsettled group in 1200.7 processing. The student type test showed that the whole of this ingredient was significant on statistics.

Table 3 reference.

Example 4 this invention persons repeated the early experiment and it was shown that body booster mineral water makes the nest of a proline increase. The body booster mineral water also without the information on the gap imprinted to it made incorporation of a proline increase to 44, 38, and 33% by 1, 5, and 10% concentration. Table 4 reference. In this experiment, the information imprinted using the WEKKUROMA rod number 1200.7 showed 16% of significant increment on statistics by the dosage 10%. Passage of the WEKKUROMA rod number 1200.7 was processed for two confluent 24 well plates with carrier beam body booster mineral water 10 times. Body booster mineral water contrast was added so that it might become 1, 5, and 10%. The same ingredient was used at the rod number 232, and through

and the same concentration were authorized. TGFbeta (10 ng/ml) was authorized as positive control. Each sample was authorized 3 times. Subsequently, by adding 1 microper each well ml l, the indicator of this sample was carried out by 1 microcurie [/ml] 3H proline. The plate was incubated over five days and this procedure was repeated in the meantime. The plate was authorized about the amount of nature incorporation of total protein after processing incubation termination. Each plate was washed for 10 minutes by the 1ml ice-cooling TCA. TCA washing was repeated every 5 twice. Subsequently, each plate was washed and dried by 1ml MeOH. Then, protein was solubilized in 0.3M NaOH and shaken quietly for 0.5 hours. Supernatant liquid was collected and, in addition to SHINCHIRANTO, it measured with the liquid scintillation counter.

TGFbeta showed 63% and 87% ($P<0.003$) of increment. body booster mineral water -- as contrast by 1, 5, and 10% concentration -- incorporation -- 44 and 38 -- and it was made to increase 33% The body booster mineral water processed by the rod number 1200.7 (anti-oxidant) showed 6 and 16% of increment respectively by 5 and 10% concentration in comparison with body booster mineral water contrast. The student type test suggested that it was significant on statistics about all ingredients, when a value was compared with unsettled contrast. The statistical analyses in comparison with body booster mineral water contrast showed the bigger value than 0.05 except for 10% concentration processed by the rod number 1200.7.

Example 5 In the following experiments, although the sodium chloride and magnesium chloride water solution which were processed with the WEKKUROMA rod 232 were not processed with the WEKKUROMA rod 232 in the collagen production by normal Homo sapiens skin fibrocyte ("NHDF"), making it increase to significant extent compared with the contrast water solution containing the salt of this concentration was shown. The capacity to which collagen production of this treated water solution is made to increase was maintained also when saved for at least six months.

0.4% NaCl in deionized water and five kinds of salting in liquid of 0.4% MgCl₂ were produced. One solution (3249/1) was used as a reference solution, without processing with the WEKKUROMA rod 232. Four sorts of remaining salting in liquid (3249/2-3249/5) was respectively processed by the WEKKUROMA rod 232-1,232-2,232-3 and 232-4. All of these WEKKUROMA rod are the same mutual duplicates. By three different dosages (the inside 1 and 5 of deionized water, and 10%), five kinds of all solutions were authorized about the increment in production of the collagen by the NHDF cell.

All the sample solutions showed the increment in various extent exceeding a contrast culture medium (see the column of change % of a table 5). WEKKUROMA processing salting in liquid 3249/2 and 3249/5 showed the significant increment in the amount of the collagen emitted by the NHDF cell under culture on the statistics exceeding 3249/1. The unsettled reference solutions 3249/1 showed the increment in collagen (it exceeds contrast culture medium) production.

Four sorts of salting in liquid processed with the WEKKUROMA rod 232 was sealed, and it saved under ambient conditions for six months, and authorized again after that about the capacity to which production of the collagen by the NHDF cell is made to increase. Moreover, it compared with the stock solution (a "re-preparation solution" and display) which reworked these "maintenance solutions" with the WEKKUROMA rod 232.

The result of assay of contrast salting in liquid, a maintenance solution, and a re-preparation solution is shown in a table 6.

Collagen level did not increase depending on existence of 10% of contrast salting in liquid (MgCl₂ and NaCl in deionized water). In the culture medium containing 10% preparation [re-] solution processed with the No. 232-rod 4, as a result, the absolute level of a collagen increased 36%, and DNA became a 6% decrease, and it became the increase of 43% collagen / DNA exceeding contrast salting in liquid synthetically combining this. When it existed by concentration 10%, the maintenance solution first processed with the No. 232-rod 4 brought about 14% of increment in collagen absolute level with a 24% decrease of DNA, and became an increase of 50% of a collagen/DNA synthetically combining this. On the other hand, mimosa PUDIKA (Mimosa pudica) used as positive control made collagen absolute level increase to 20%, and decreased DNA to 65%, and, as a result, became an increase of 238% of a

collagen/DNA synthetically.

What showed the substantial increase of collagen level among the examined sample solutions was only the re-preparation solution processed with the No. 232-rod 4, and the maintenance solution processed with the No. 232-rod 4. These samples brought about 43% and 50% of increment respectively (exceeding salting in liquid contrast). In this assay, positive control mimosa PUDIKA (50microg/(ml)) brought about 238% of increment exceeding a contrast culture medium.

The outline of the approach for measuring the collagen used for below by said two law and DNA level is shown.

A NHDF cell is planted, and it was made to increase in advance of processing with a WEKKUROMA sample until it became confluent in 96 well plate (n= 3). Mimosa PUDIKA (50microg/(ml)) was added as positive control, and it made a culture-medium independent into the negative control. Before extracting supernatant liquid, this plate was saved at -70 degrees C in 37 degrees C / test tube which siliconized until it incubated for four days by CO₂ 5% and performed ELISA.

Collagen ELISA was performed as follows. : The Homo sapiens 1 mold collagen of the amount of optima covered 96 well enzyme immunoassay grade microliter plate at 4 degrees C overnight. It is among another microliter plate (low protein association), and it mixed with either the standard collagen or the strange collagen, and the primary antibody (rabbit anti-Homo sapiens 1 mold collagen) of the amount of isochore was made to react at 4 degrees C overnight (inhibition process). It is thought that some primary antibodies which combined with the primary antibody the collagen which exists in the state of [strange] a standard collagen, and were not combined remain.

Subsequently, the phosphoric-acid buffer-ized physiological saline (PBST) containing 0.05% Tween-20 fully washes this collagen coat plate, and it is made to dry and blocks by PBS which contains bovine serum albumin 1.5 hours and 3% at 37 degrees C. Subsequently, this blocking solution is removed from a well, a plate is dried, and it moves to the collagen coat plate which had the contents of the well containing a primary antibody / criterion, or a strange solution blocked.

without it incubates for 30 minutes at a room temperature and combines this plate with an isolation collagen — ***** — any primary antibody is combined with this collagen coat plate. The solution is discarded after the incubation for 30 minutes. It is thought that the primary antibody combined with the isolation collagen (a reference standard or strange object origin) exists in waste fluid. Any primary antibody which was not combined with a collagen in the inhibition process will be freely combined with the collagen which covers a well. If a lot of collagens exist in a standard solution or a strange solution, most primary antibodies will be restrained and will not be used for association with the collagen which covers a well.

The primary antibody combined with the collagen which covers a well adds a goat **-rabbit IgG-alkaline-phosphatase joint antibody, incubates at a room temperature for 1.5 hours, and is detected by subsequently fully washing by PBST further. The alkaline phosphatase which exists in a well is detected by adding phosphoric-acid p-nitrophenyl as a substrate, and optimum concentration is measured in 405nM(s) with a mol KYURA device microplate reader (Molecular Device microplate reader). A standard curve is produced and strange collagen level is determined from this curve.

DNA assay was performed as follows. DNA level is measured by performing freezing/thawing dissolution of a cell under water and existence of Hoechst3 3258 (color which combines with DNA and serves as fluorescence). Subsequently, a plate is measured with a spectrophotometer and DNA level is computed from a standard curve.

Example 6 The supporters who processed only by the magnetic vector potential field can be manufactured without giving any information energy. This can be attained by letting a solution pass to WEKKUROMA biotechnology tolansir equipment, for example, without arranging any rod in the equipment. When these processing supporters medicate the skin with the supporters, they can improve skin condition.

table [] 1 the presentation of body booster mineral water

アルミニウム	1-10%	モリブデン	0
ヒ素	0	ニオブ	0
アンチモン	0	ニッケル	0.01-0.1%
バリウム	0	リン	0
ベリリウム	0.01-0.1%	カリウム	0
ホウ素	0.01-0.1%	ナトリウム	0.1-1.0%
ビスマス	0	ケイ素	0.01-1.0%
カドミウム	0	銀	0
カルシウム	10-100%	ストロンチウム	0.1-1.0%
クロム	0	タンタル	0
コバルト	0	テルル	0
銅	0.01-0.1%	スズ	0
鉄	0.01-0.1%	チタン	0.01-0.1%
鉛	0	タングステン	0
リチウム	0	バナジウム	0
マグネシウム	1-10%	亜鉛	<0.01%
マンガン	1-5%	ジルコニウム	0
水銀	0		

材料	平均DPM	変化%	P値
对照	29666.67		
未処理 Fe H ₂ O	0.10%	30266	2.020225
	0.50%	28933.33	-2.47191
	1%	31395	5.825843
对照	26077.33		
処理 Fe H ₂ O	0.10%	26974.33	3.439769
	0.50%	30508.67	16.99305
	1%	33053.33	26.7512
			0.03

A table 2

	dpm	平均dpm	変化%	P値	BB対照から の変化%
BB-対照	105215				
	110134	109543.3	34.19933	0.001	
	113281				
	95021				
	5%	117246	107548.3	31.75529	0.02
		110378			
	95786				
	10%	99194	98260.33	20.37675	0.001
		99801			
BB-232	111191				
	125587	123668.3	51.50358	0.003	12.89444
	134227				
	122170				
	5%	110580	117679	44.16617	0.001
		120287			
	95146				
	10%	104946	100037	22.55331	0.004
		100019			
BB-12007	104023				
	112237	109372.3	34.08511	0.002	-0.1561
	111857				
	109353				
	5%	108673	113090.7	38.64361	0.003
		121246			
	106709				

A table 3

10%	100710	96776.33	18.64304	0.12	-1.51027
	82910				

	dpm	平均 dpm	平化%	P 値	dpm 最小 平均対照	BB 間での P 値
対照	36315 30825 30414	32558				
TGF B	51288 58159 49800	53015.67	62.83453	0.003		
	48752 44941 47082	46925	44.1274	0.003	16194 12383 14524	
BB-C	49367 41801 43797	44988.33	38.17804	0.01	16809 9243 11239	
	39432 50542 39763	43245.57	32.82655	0.06	6874 17984 7205	
	41992 45412 48420	45508	40.08231	0.01	9434 13854 15862	0.58
BB-232	45920 44542 50013	46258.33	43.92264	0.005	13362 12084 17455	0.54
	44162 43276 46348	43928.57	34.92434	0.004	11604 10718 11790	0.86
対照	28578 25524 33584	25228.57				
TGF B	51548 57205 55401	54718.33	87.20776	0.001		
	44480 42907 41449	42945.33	46.92881	0.005	15251.33 13678.33 12220.33	0.67
BB-1200.7	45415 52041 45126	47527.33	62.6052	0.005	16186.33 22812.33 15897.33	0.14
	49850 49835 50472	50052.33	71.24398	0.001	20621.33 20606.33 21243.33	0.05

A table 4

table [] 5 production of the collagen by the NHDF cell put to the sample solution

サンプル	pg/ml+/-S.D.	変化%	P値
3249/1 対照塩溶液10%	2.5+/-0.02	4.2	
5%	2.7+/-0.03	12.5	
1%	2.6+/-0.01	8.3	
3249/2 10%	3.0+/-0.06	25	0.02
5%	2.8+/-0.07	17	0.1
1%	2.4+/-0.12	0	0.8
3249/3 10%	2.6+/-0.02	8.3	0.1
5%	2.7+/-0.06	12.5	0.2
1%	2.8+/-0.11	17	0.2
3249/4 10%	2.7+/-0.09	12.5	0.1
5%	2.7+/-0.09	12.5	0.8
3249/5 10%	3.5+/-0.04	46	0.002
5%	3.0+/-0.05	25	0.02
TBF β	3.0+/-0.02	25	
培地対照	2.4+/-0.01		

Table 6 Production of collagen by NHDF cell put to maintenance solution and re-preparation solution

サンプル	コラーゲン ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	変化%	DNA ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	変化%	コラーゲン /DNA	変化%
培地	0.15+/-0.001		6.2+/-0.3		0.024	
M. Pudica	0.18+/-0.008	+20	2.2+/-0.1	-65	0.081	238
対照 塩溶液	0.14+/-0.006		5.0+/-0.11		0.028	
#232- ロッド4 再調製	0.19+/-0.015	+36	4.7+/-0.08	-6	0.040	+43
#232- ロッド4 維持	0.16+/-0.023	+14	3.8+/-0.09	-24	0.042	+50
#232- ロッド1 維持	0.15+/-0.012	+7	4.6+/-0.07	-8	0.033	+18
#232- ロッド2 維持	0.14+/-0.018	0	6.5+/-0.02	+30	0.021	-25
#232- ロッド3 維持	0.15+/-0.015	+7	5.2+/-0.07	+4	0.029	+3
#232- ロッド3 再調製	0.16+/-0.01	+14	4.6+/-0.12	-8	0.035	+25

BQ ロッド BQ- DAT-C4	0.14+/-0.002	0	4.4+/-0.06	-12	0.032	+14
----------------------------	--------------	---	------------	-----	-------	-----

Probably, it will be clear to this contractor other examples' which are not indicated especially to be contained in the range and pneuma of this invention. Therefore, it should be thought that the publication of this description is not what limits this invention at any cost other than having been indicated by the following claims.

All the reference reference quoted upwards carries out source designation, and it is considered that it is some of these descriptions.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIP are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]

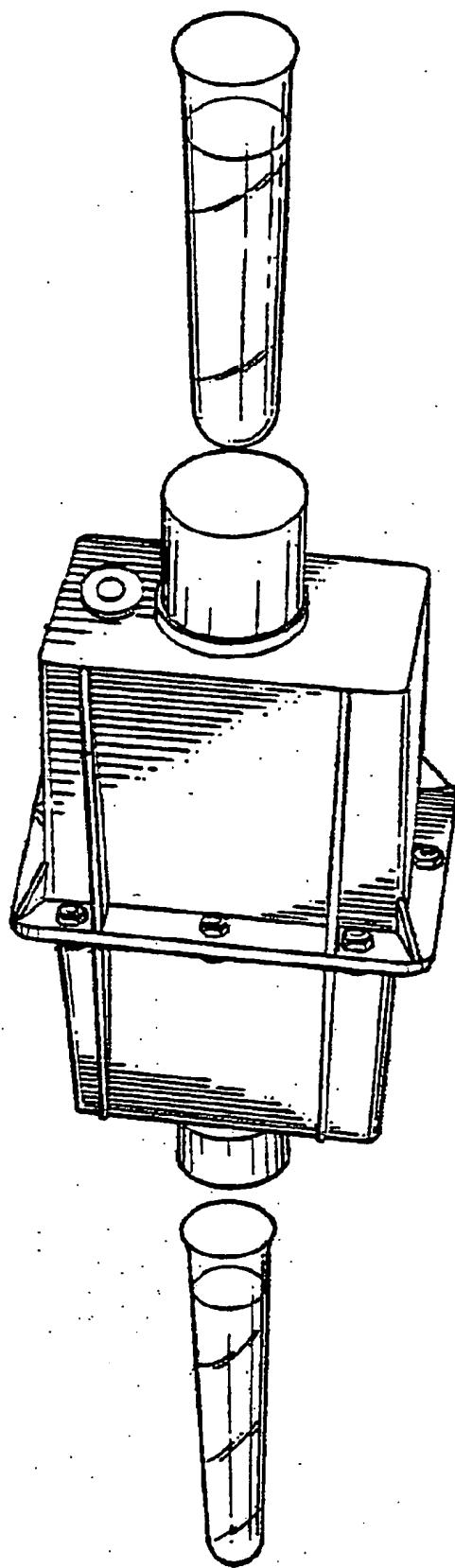


FIG.1

[Drawing 2]

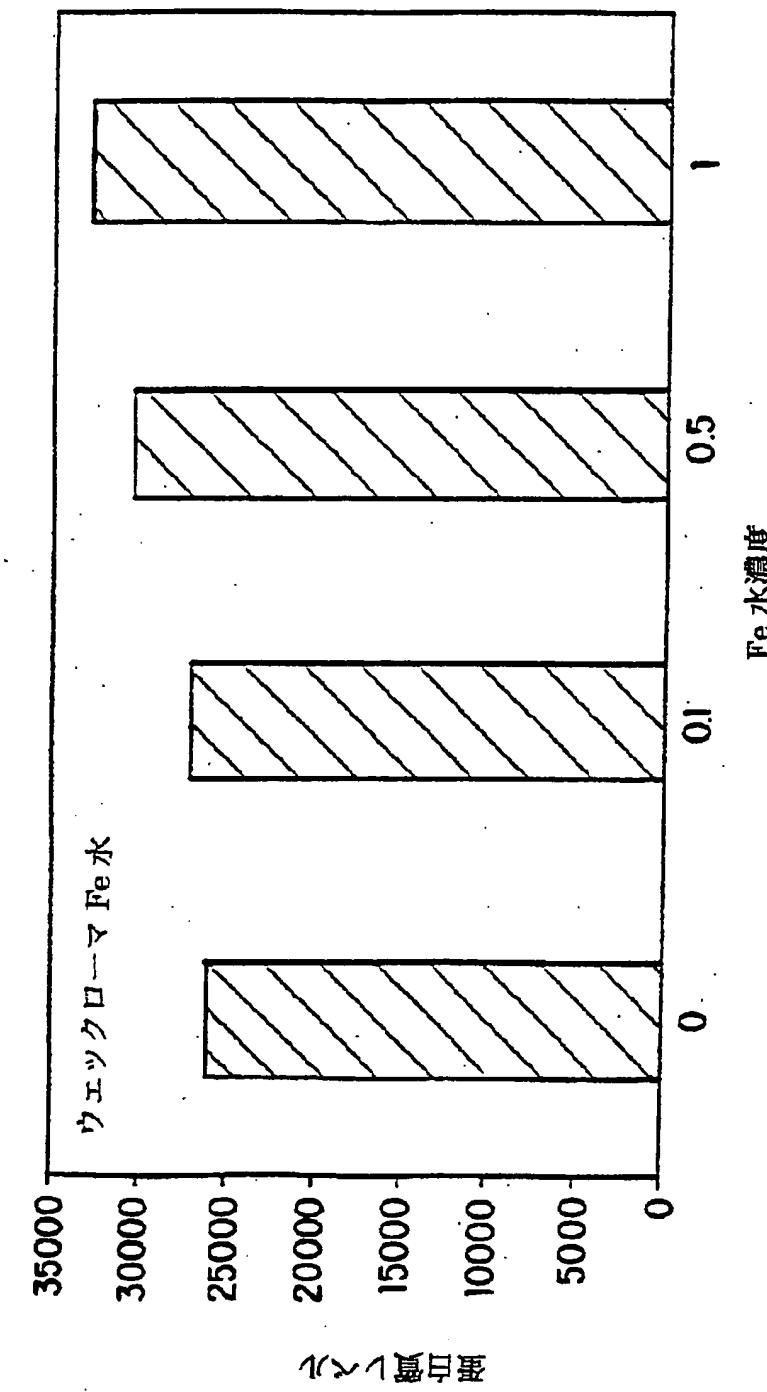


FIG. 2

[Translation done.]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2001-508761

(P2001-508761A)

(43)公表日 平成13年7月3日(2001.7.3)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

マーク(参考)

A 61 K 33/14

A 61 K 33/14

7/00

7/00

A

7/48

7/48

41/00

41/00

A 61 P 17/00

A 61 P 17/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁)

(21)出願番号

特願平9-542461

(71)出願人 イーエル マネジメント コーポレーション

(86) (22)出願日

平成9年5月13日(1997.5.13)

アメリカ合衆国 10153 ニューヨーク州

(85)翻訳文提出日

平成10年11月24日(1998.11.24)

ニューヨーク, フィフス アベニュー
767

(86)国際出願番号

PCT/US97/07936

(72)発明者 グーベルニック, ジョセフ

(87)国際公開番号

WO97/44810

アメリカ合衆国 10021 ニューヨーク州
ニューヨーク, イースト 71番 ストリート 3

(87)国際公開日

平成9年11月27日(1997.11.27)

(74)代理人 弁理士 平木 祐輔 (外1名)

(31)優先権主張番号

08/646,798

(32)優先日

平成8年5月21日(1996.5.21)

(33)優先権主張国

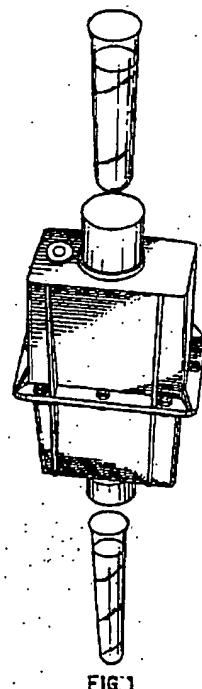
米国(US)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 皮膚コンディションの改善方法

(57)【要約】

磁気ベクターポテンシャル場に曝され、かつ情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層を皮膚に投与することによる、皮膚コンディションの改善方法。



【特許請求の範囲】

1. a) 生理学上許容される支持層を磁気ベクトルポテンシャル場に曝し、次いで b) 該曝露支持層を皮膚に投与することを含んでなる、皮膚コンディションの改善方法。
2. a) 生理学上許容される支持層を磁気ベクトルポテンシャル場に曝し、該支持層が磁気ベクトルポテンシャル場に曝されている間に該支持層に情報エネルギーを直接付与して情報エネルギーを含む支持層を製造し、次いで b) 該情報エネルギー含有支持層を皮膚に投与することを含んでなる、皮膚コンディションの改善方法。
3. 生理学上許容される支持層を皮膚に投与することによる皮膚コンディションの改善方法であって、ここで該支持層は生理学上許容される支持層を磁気ベクトルポテンシャル場に曝すことによって製造される、前記方法。
4. 情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層を皮膚に投与することによる皮膚コンディションの改善方法であって、ここで該支持層は生理学上許容される支持層を磁気ベクトルポテンシャル場に曝し、該支持層が磁気ベクトルポテンシャル場に曝されている間に該支持層に情報エネルギーを直接付与することによって製造される、前記方法。
5. 前記改善が皮膚のコラーゲン含量を増加させることである、請求項 1、2、3 または 4 記載の方法。
6. 前記支持層が気相、液相、固相または液晶相中にある、請求項 1、2、3 または 4 記載の方法。
7. 前記支持層が液相または液晶相中にある、請求項 6 記載の方法。
8. 前記支持層が液相中にある、請求項 7 記載の方法。
9. 前記液相が水を含んでなる、請求項 7 記載の方法。
10. 前記液相が塩化ナトリウムおよび塩化マグネシウムを含んでなる、請求項 9 記載の方法。
11. 前記液相が鉄イオンおよびカルシウムイオンを含んでなる、請求項 9 記載の方法。
12. 前記磁気ベクトルポテンシャル場が、各セットが N 極と S 極が交互に並

列された複数の磁石からなる向かい合った2セットの磁石によって形成され、支持層がその向かい合った磁石セットの間に置かれた場合に磁気ベクトルポテンシャル場に曝される、請求項1、2、3または4記載の方法。

13. 前記支持層がウェックローマ・バイオトランサー装置を少なくとも1度通過する、請求項1-2記載の方法。

14. 1200.7、622、232、7509、326、329、フィプロ1およびフィプロ2からなる群より選択される少なくとも1つのウェックローマ・ロッドを用いて、該支持層に情報エネルギーを直接付与する、請求項2または4記載の方法。

15. 少なくとも1つのウェックローマ・ロッド番号232を用いて、該支持層に情報エネルギーを直接付与する、請求項1-4記載の方法。

16. 該支持層が、磁気ベクターポテンシャル場を形成しつつ少なくとも1つのウェックローマ・ロッド番号232を含むウェックローマ・バイオトランサー装置を少なくとも1度通過する、請求項1-5記載の方法。

【発明の詳細な説明】

皮膚コンディションの改善方法発明の分野

本発明はホメオパシー療法(homeopathic treatments)の分野に関し、さらに詳しくは、美容および医療用の情報エネルギーを含有する生理学上許容される支持層(substrate)の使用に関する。

発明の背景

ホメオパシーは、天然物質、例えば、ハーブ(herbs)、抗体もしくは花粉の分子構造中に存在する情報またはパターンからの情報、例えば、異なる振動数の振動パターンや組合せを支持層上にコピーすることと説明されている。次いで、コピーされた情報またはそれらに組み込まれたパターンを有する支持層を用いて所望の応答を達成することができる。例えば、ホメオパシー薬において、所望の応答とは枯草熱患者のアレルギー症状の軽減であってもよい。

K. E. Werner Kroppの米国特許第5,138,172号では、その支持層を磁気ベクトルポテンシャル場(magnetic vector potential field)に曝すことにより、生理食塩水やオイル等の支持層に情報エネルギーを付与する方法を教示している。K. E. Werner Kroppの米国特許第5,012,110号では、向かい合った磁石セットの間にその支持層を置くことによる合成ホメオパシー支持層の製造方法を教示している。

J. J. C. Morezの1990年1月26日に公表されたフランス特許出願の第2,634,381号公報および1991年7月25日に公表されたWO91.10450では、送受信機によって水等の大量の材料にホメオパシー治療薬の電磁情報を伝達することにより、より多量のホメオパシー薬を製造する方法を教示している。

本発明の目的は、化粧品に使用するための、例えば皮膚コンディションを改善するための情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層を使用する新規な方法を提供することである。

本発明のもう1つの目的は、ホメオパシー薬に使用される情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層を使用する新規な方法を提供することである。

発明の概要

本発明は、天然のハーブで発見された後にモデル化された振動パターン等の情報エネルギーに曝した水性塩溶液、マッサージオイルや他の製剤学上許容される担体等の支持層の使用に関する。一般に、該支持層は気相、液相、固相または液晶相中にあってよい。該水性塩溶液は塩化ナトリウムおよび塩化マグネシウム、ならびに溶解した鉄イオンおよびカルシウムイオンを含有していてよい。

情報エネルギーを含む支持層を使用して、該支持層を皮膚に局所的に投与することにより皮膚コンディションを改善することができる。皮膚コンディションとは、限定されるものではないが、乾燥肌、ゼロシス(zerosis)、魚鱗癬、ふけ、褐色斑、角化症、黒皮症、ほくろ、加齢斑、肝斑、色素斑、しわ、傷、スキンライン(skin lines)、脂性肌、ざ瘡、いぼ、湿疹、かゆみ症肌、乾癬、炎症性皮膚病、角質化障害、加齢に伴う肌変化、クレンザー、コンディショニングまたはトリートメントを要する爪や皮膚、ならびにシャンプーやコンディショニングをする毛髪や頭皮を意味する。

本発明は、情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層に細胞を接触させることにより、ヒト皮膚纖維芽細胞におけるプロリンの取り込みを増加させる特殊な方法を提供する。

プロリン取り込みの増加はこれら細胞のコラーゲン合成の指標であり、皮膚コンディションを改善する1つの経路である望ましい美容上の利点である。纖維芽細胞は真皮中にあり、多くの機能を果たす。すなわち、例えば、コラーゲン、エラスチン、グリコースアミノグリカン類(GAGS)を合成する。プロリンはコラーゲン構造の不可欠部分であるアミノ酸である。本発明者らはプロリン取り込みの総量の増加を証明することにより、合成されたコラーゲンの総量の増加を証明する。コラーゲンおよびエラスチンは、皮膚の堅さと弾性にあずかる真皮で見られる2種の蛋白質である。若くて健康な皮膚はこれら2種の蛋白質を豊富に有している。身体の老化に伴い、これらの蛋白質を合成するプロセスは低下する。従って、コラーゲン/エラスチンの総量は年齢者ほど減少し、皮膚の健康は低下する。本発明による真皮中のコラーゲン/エラスチンの量の増加は皮膚コンディションの改善をもたらす。

さらに本発明は、情報エネルギーを含む生理学上許容される支持層を製造する

特殊な方法を提供する。本法は概してK. E. Werner Kroppの米国特許第5,012,110号および第5,138,172号に記載され、磁気ベクトルポテンシャル場と呼ばれる磁場内で特定の配置に置かれた支持層に所望の振動数の情報エネルギーを付与することを含む。支持層に該情報エネルギーを施すための装置は、

- a) 支持層がその向かい合った磁石セットの間に置かれた場合に磁気ベクトルポテンシャル場に曝される、各セットがN極とS極が交互に並列された複数の磁石を含んでなる向かい合った2セットの磁石と、
- b) 支持層を該磁気ベクトルポテンシャル場内に置いた場合に、該支持層に情報エネルギーを付与する手段と、

を有してなる。

支持層への情報エネルギーの付与は次の特性：

1200.7 抗酸化剤BHT N-アセチルシスチン β カラテン(Caraten)
 622 セリュライト
 232 コラーゲン合成の回復(revitalization)、ロッドの平衡(Balancing Rods)

7509 フリーラジカルの中和

326 細菌増殖の阻害

329 細菌増殖の阻害

フィプロ1 繊維芽細胞の刺激

フィプロ2 繊維芽細胞の刺激

を有するウェックローマ・ロッド(Wekroma rods)に曝すことにより達成される。

支持層は、その支持層が少なくとも一度その装置を通過するウェックローマ・バイオトランサー(Wekroma Bio-Transer)装置の使用により、上記ウェックローマ・ロッドに曝されることが好ましい。該支持層は個々に、もしくは組み合わせてロッドに曝してもよい。

加えて本発明は、a) 生理学上許容される支持層を磁気ベクトルポテンシャル場に曝し、次いでb) 曝露した支持層を皮膚に投与することを特徴とする皮膚コンディションの改善方法を提供する。かくして、情報エネルギーの付与なしでの前述の磁石セットのごとき磁気ベクトルポテンシャル場への支持層の曝露は、皮

膚コンディションを改善できる処理支持層を得るのに十分である。該支持層を磁気ペクトルポテンシャル場で処理する1つの好ましい方法は、支持層をその装置内のいずれのウェックローマ・ロッドも配置しないウェックローマ・バイオトランサー装置に少なくとも一度通すことである。

図面の簡単な説明

図1は、ウェックローマーヴァートリエブ・スイス社(Wekroma-Vertrieb Schweiz)より入手できるバイオトランサー装置である。

図2は、ウェックローマ・バイオトランサー装置で処理したボディ・ブースター(Body Booster)ミネラルウォーターの濃度の上昇とヒト皮膚纖維芽細胞におけるプロリンレベルの増加との関係を示すグラフである。

好ましい具体例の詳説

支持層を情報エネルギーに曝す様式は、概して、K. E. Werner Kroppの米国特許第5,138,172号、K. E. Werner Kroppの米国特許第5,012,110号、J. J. C. Morezのフランス特許出願第2,634,381号公報、およびJ. J. C. MorezのWO91,10450に記載されている。該支持層は一般に気相、液相、固相または液晶相中にある。

水溶液を情報エネルギーに曝す1つの改変装置(arrangement)は、Beat Lanz, 6313 Menzingen, ドイツ連邦共和国のウェックローマーヴァートリエブ・スイス社より購入したウェックローマ・バイオトランサー装置の使用によるものである。ウェックローマによって供給されるロッド番号232を、図1で示すウェックローマ・バイオトランサー装置に配置した。水溶液を含有する試験管をチャンネル開口部を通してバイオトランサー装置を通過させた。その溶液が該バイオトランサー装置内にある滞留時間は重大であるかどうかは明らかではないが、典型的には1秒ないし数秒未満の範囲である。試験管が該バイオトランサー装置を通過する速度は典型的にはそれが自由落下する速度である。滞留時間および通過の速度は双方とも、制御した特定の速度で溶液ポンプを該バイオトランサー装置に通すことにより制御可能である。

実施例1

以下にウェックローマ・バイオトランサー装置で処理した食塩水溶液がいかにしてヒト皮膚纖維芽細胞によるプロリンの取り込みを刺激するかを示す。

1. 99.2グラムの滅菌蒸留水に0.4グラムの塩化ナトリウムおよび0.4グラムの塩化マグネシウムを加える。固形物が溶解して透明な溶液が得られるまで、室温で攪拌する。
2. 工程1で得られた溶液を5等分し、滅菌試験管内で保存した。
3. サンプル番号1は処理せずに残し、他の処理サンプルと比較するための対照として用いた。
4. ロッド番号232-1(ウェックローマより供給)を添付の図面の図1に示したようにウェックローマ・バイオトランサー装置に配置した。
5. 次いで滅菌塩溶液の入った試験管の1つを添付の図面で示したようなバイオトランサーに通した。この手順を2回繰り返した。その後、このサンプルを取っておいた。
6. 次いでロッド番号232-1をバイオトランサーから取り出し、ロッド番号232-2を該バイオトランサー中に設置した。滅菌塩溶液が入った別の試験管を工程5のようにバイオトランサーに通した。
7. 残りの試験管が処理されるまで前記手順を繰り返した(サンプル番号4はロッド番号232-3で処理し、サンプル番号5はロッド番号232-4で処理した)。ロッド番号232-1、2、3および4は同一な互いの複製である。
8. 全てのサンプルをプロリン取り込み試験に供した。結果は全てのサンプルが対照培地を上回る増加を示したことを示唆している。ウェックローマ処理塩溶液(サンプル番号2および5)はサンプル1(ウェックローマ・バイオトランサー装置で処理しなかった塩溶液)を上回る統計学上有意な増加を示した。

プロリン取り込み試験のプロトコールは以下の通りである。2つのコンフルエントな24ウェルプレートをこのサンプル溶液で処理した。未処理の塩溶液対照は、1、5および10%濃度になるように加えた。同一材料の溶液をロッド番号232に通し対照と同一の濃度で検定した。各サンプルを3回(in triplicate)検定した。次いで、このサンプルを、各々ウェル $\text{m}l$ につき $1\mu\text{l}$ を加えることにより、 $1\mu\text{Ci}/\text{m}l$ の ^3H プロリンで標識した。プレートを5日間にわたってインキュベートし、その間、この処理手順を繰り返した。処理インキュベーション終了後、プレートを総蛋白質取り込み量に関して検定した。各プレートを $1\text{m}l$ の氷冷PBS、次いで

1ml

の氷冷TCAで10分間洗浄した。TCA洗浄は5分ずつ2回繰り返した。次いで各プレートを1mlのMeOHで洗浄し、乾燥させた。その後、蛋白質を0.3M NaOH中で可溶化し、0.5時間穏やかに振盪した。上清を回収し、シンチラント(scintillant)に加え、液体シンチレーションカウンターで測定した。

実施例2

以下にウェックローマ・バイオトランサー装置で処理した特定のミネラルウォーターがいかにしてヒト皮膚纖維芽細胞によるプロリンの取り込みを刺激するかを示す。

実施例1に記載したように、表1に挙げた組成を有するボディーブースターミネラルウォーターを、ウェックローマ・ロッド番号232を使用するウェックローマ・バイオトランサー装置で処理した。

ミネラルウォーターの添加に先立ち、3つのコンフルエントな24ウェルプレートを $1\mu\text{Ci}/\text{ml}$ の ^3H プロリンで標識した。ウェックローマ・バイオトランサー装置で処理したボディーブースターミネラルウォーターを用い、対照として未処理ミネラルウォーターを用いて試験を行った。

各サンプルは、0.1、0.5および1%濃度を用いて3回検定した。プレートを、総蛋白質に関して検定する前に、その週末にわたってインキュベートした。この時、各プレートを1mlの氷冷PBS、次いで1mlの氷冷TCAで10分間洗浄した。TCA洗浄は5分ずつ2回繰り返した。次いで各プレートを1mlのMeOHで洗浄し、乾燥させた。その後、蛋白質を1% SDS含有0.3M NaOH中で可溶化し、0.5時間穏やかに振盪した。上清を回収し、シンチラントに加え、液体シンチレーションカウンターで測定した。

ウェックローマ処理ボディーブースターミネラルウォーターに関しては、プロリンカウント(count)の増加が認められた。用量依存的増加が見られ、0.1、0.5および1%濃度が蛋白質を各々3、17および27%まで増加させた。表2および図2を参照。0.5および1%用量についての結果は統計学上有意であり、P値は各々0.02および0.03であった。

実施例3

以下にボディブースターミネラルウォーターそれ自身がプロリンの取り込みを

増加させるということを示す。しかしながら、実施例1に概略を示したように、ロッド番号232を用いるウェックローマ・トランサー装置でこのミネラルウォーターを処理した結果、未処理ミネラルウォーターと比較してより高いプロリンの取り込みが起きる。ロッド番号1200.7を用いるウェックローマ・トランサー装置でのこのミネラルウォーターの処理は、プロリンの取り込みを対照以上には増加させなかつた。

2つのコンフルエントな24ウェルプレートを以下で処理した：ウェックローマ・ロッド番号232および1200.7からなるボディーブースターの異なる種々の処理。ボディーブースター対照を1、5および10%になるよう加えた。同一材料をロッド番号232および1200.7に通し、同一濃度で検定した。各サンプルは3回検定した。次いでこのサンプルを各ウェル mL につき $1\mu Ci$ を添加することにより、 $1\mu Ci/mL$ の 3H プロリンで標識した。プレートを5日間にわたってインキュベートし、この間、この処理手順を繰り返した。処理インキュベーション終了後、プレートを総蛋白質取り込み量に関して検定した。各プレートを $1mL$ の氷冷PBS、次いで $1mL$ の氷冷TCAで10分間洗浄した。TCA洗浄は5分ずつ2回繰り返した。次いで各プレートを $1mL$ のMeOHで洗浄し、乾燥させた。その後、蛋白質を0.3M NaOH中で可溶化し、0.5時間穏やかに振盪した。上清を回収し、シンチラントに加え、液体シンチレーションカウンターで測定した。

ボディーブースターはロッド232で処理した場合、52%取り込みを増加させ、未処理群から12%増をもたらしたが、一方、1200.7処理では未処理群と同等であった。スクエアーデント式テストは、この材料が全て統計学上有意であることを示した。

表3参照。

実施例4

本発明者らは初期の実験を繰り返し、ボディーブースターミネラルウォーターがプロリンの組込みを増加させることを示した。それへ転写されたいずれの情報も

持たないボディブースターミネラルウォーターは、1、5および10%濃度でプロリンの取り込みを44、38および33%まで増加させた。表4参照。この実験では、ウェックローマ・ロッド番号1200.7を用いて転写された情報は、10%用量で統計学上有意な16%の増加を示した。

2つのコンフルエントな24ウェルプレートを、ウェックローマ・ロッド番号1200.7の通過を10回受けたボディブースターミネラルウォーターで処理した。ボディブースターミネラルウォーター対照を1、5および10%になるよう加えた。同一材料をロッド番号232に通し、同一濃度を用いて検定した。TGF β (10ng/ml)を陽性対照として検定した。各サンプルは3回検定した。次いでこのサンプルを各ウェルmlにつき $1\mu\text{l}$ を添加することにより、 $1\mu\text{Ci/ml}$ の ^3H プロリンで標識した。プレートを5日間にわたってインキュベートし、この間、この処理手順を繰り返した。処理インキュベーション終了後、プレートを総蛋白質取り込み量に関して検定した。各プレートを1mlの氷冷TCAで10分間洗浄した。TCA洗浄は5分ずつ2回繰り返した。次いで各プレートを1mlのMeOHで洗浄し、乾燥させた。その後、蛋白質を0.3M NaOH中で可溶化し、0.5時間穏やかに振盪した。上清を回収し、シンチラントに加え、液体シンチレーションカウンターで測定した。

TGF β は63%および87% ($P < 0.003$)の増加を示した。ボディブースターミネラルウォーターは、1、5および10%濃度での対照として、取り込みを44、38および33%増加させた。ロッド番号1200.7 (抗酸化剤)で処理したボディブースターミネラルウォーターは、ボディブースターミネラルウォーター対照と比較した場合、5および10%濃度で各々6および16%の増加を示した。スチューデント式テストは、値を未処理対照と比較した場合、全ての材料について統計学上有意であることを示唆した。ボディブースターミネラルウォーター対照と比較した統計分析は、ロッド番号1200.7で処理した10%濃度を除いて、0.05より大きな値を示した。

実施例5

以下の実験では、ウェックローマ・ロッド232で処理した塩化ナトリウムおよび塩化マグネシウム水溶液が正常ヒト皮膚纖維芽細胞 ("NHDF") によるコラーゲン産生を、ウェックローマ・ロッド232で処理されていないが同濃度の塩を含有

する対照水溶液と比べて有意な程度まで増加させることが示された。この処理水溶液のコラーゲン産生を増加させる能力は、少なくとも6ヶ月保存した場合も維持されていた。

脱イオン水中の0.4% NaClおよび0.4% MgCl₂の塩溶液を5種類作製した。1つの溶液(3249/1)はウェックローマ・ロッド232で処理せずに、対照溶液として用

いた。残りの4種の塩溶液(3249/2-3249/5)は、各々ウェックローマ・ロッド232-1、232-2、232-3および232-4で処理した。これらウェックローマ・ロッドは全て互いの同一の複製である。5種類の溶液全てを3つの異なる用量(脱イオン水中1、5および10%)で、NHDF細胞によるコラーゲンの産生の増加に関して検定した。

全てのサンプル溶液は、対照培地を上回る種々の程度の増加を示した(表5の変化%の欄を参照)。ウェックローマ処理塩溶液3249/2および3249/5は、培養中のNHDF細胞によって放出されたコラーゲンの量において、3249/1を上回る統計学上有意な増加を示した。未処理対照溶液3249/1は、(対照培地を上回る)コラーゲン産生の増加を示した。

ウェックローマ・ロッド232で処理した4種の塩溶液を密閉し、6ヶ月間周囲条件下で保存し、その後、NHDF細胞によるコラーゲンの産生を増加させる能力に関して再び検定した。また、これらの「維持溶液」をウェックローマ・ロッド232で再処理した保存溶液(「再調製溶液」と表示)と比較した。

対照塩溶液、維持溶液および再調製溶液の検定の結果は表6に示されている。

コラーゲンレベルは10%の対照塩溶液(脱イオン水中のMgCl₂およびNaCl)の存在によっては増加しなかった。232番-ロッド4で処理した10%再調製溶液を含有する培地では、結果として、コラーゲンの絶対レベルが36%増加し、またDNAは6%減となり、これを組み合わせて総合的には対照塩溶液を上回る43%コラーゲン/DNA増となった。最初に232番-ロッド4で処理した維持溶液は、10%濃度で存在する場合、DNAの24%減とともにコラーゲン絶対レベルにおける14%の増加をもたらし、これを組み合わせて総合的には50%のコラーゲン/DNA

増となった。これに対して、陽性対照として用いたミモザ・プディカ (*Mimosa pudica*) は、コラーゲン絶対レベルを20%まで増加させ、またDNAを65%まで減少させ、その結果総合的には238%のコラーゲン/DNA増となった。

試験したサンプル溶液のうち、コラーゲンレベルの実質的増加を示したものは、232番-ロッド4で処理した再調製溶液と232番-ロッド4で処理した維持溶液のみであった。これらのサンプルは、(塩溶液対照を上回って) 各々43%および50%の増加をもたらした。この検定では、陽性対照ミモザ・プディカ (50 μ g/ml) が対照培地を上回る238%の増加をもたらした。

以下に前記2法で用いたコラーゲンおよびDNAレベルを測定するための方法の概略を示す。

ウェックローマサンプルでの処理に先立って、NHDF細胞を植え付け、96ウェルプレート中でコンフルエントになるまで増殖させた (n=3)。ミモザ・プディカ (50 μ g/ml) を陽性対照として加え、培地単独を陰性対照とした。上清を採取する前に、このプレートを37°C/5% CO₂にて4日間インキュベートし、ELISAを行うまでシリコーン処理をした試験管中で-70°Cにて保存した。

コラーゲンELISAは以下のようにして行った：

96ウェル酵素イムノアッセイグレード・マイクロリットルプレートを、至適量のヒト1型コラーゲンで4°Cにて一晩被覆した。別のマイクロリットルプレート(低蛋白質結合)中で、等容量の一次抗体(ウサギ抗ヒト1型コラーゲン)を標準コラーゲンまたは未知のコラーゲンのいずれかと混合し、4°Cにて一晩反応させた(阻害工程)。標準コラーゲンまたは未知状態で存在するコラーゲンは一次抗体と結合し、結合しなかった一次抗体がいくらか残ると考えられる。

次いで、このコラーゲン被覆プレートを0.05% Tween-20を含有するリン酸緩衝化生理食塩水(PBST)で十分に洗浄し、乾燥させ、37°Cにて1.5時間、3%ウシ血清アルブミンを含有するPBSでブロッキングする。次いで、該ブロッキング溶液をウェルから取り除き、プレートを乾燥させ、一次抗体/標準または未知溶液を含有するウェルの内容物をブロッキングされたコラーゲン被覆プレートに移す。このプレートを室温にて30分間インキュベートして、遊離コラーゲンに結合しな

いで残つたいたずれの一次抗体をもこのコラーゲン被覆プレートに結合させる。30分のインキュベーションの後、その溶液を廃棄する。廃液中には（標準品または未知物由来の）遊離コラーゲンに結合した一次抗体が存在すると考えられる。阻害工程中にコラーゲンに結合しなかつたいたずれの一次抗体も、ウェルを被覆するコラーゲンに自由に結合するであろう。もし標準溶液または未知溶液中に多量のコラーゲンが存在すれば、大部分の一次抗体は拘束され、ウェルを被覆するコラーゲンとの結合に利用されない。

ウェルを被覆するコラーゲンに結合した一次抗体は、ヤギ抗-ウサギ IgG-アルカリホスファターゼ結合抗体を添加し、室温で1.5時間インキュベートし、次いでさ

らにPBSTで充分に洗浄することにより検出される。ウェル中に存在するアルカリホスファターゼは、基質としてリン酸P-ニトロフェニルを添加することにより検出され、至適濃度はモルキュラー・デバイス・マイクロプレート・リーダー(Molecular Device microplate reader)で405nmにて測定する。標準曲線を作製し、この曲線から未知のコラーゲンレベルを決定する。

DNAアッセイは以下のようにして行った。水およびHoechst3 3258(DNAに結合して蛍光性となる染料)の存在下で細胞の凍結/解凍溶解を行うことにより、DNAレベルを測定する。次いで、プレートを分光光度計で測定し、標準曲線からDNAレベルを算出する。

実施例6

いたずれの情報エネルギーも付与することなく、磁気ベクトルポテンシャル場のみで処理した支持層を製造することができる。これは例えば、その装置中にいたずれのロッドも配置することなく、溶液をウェックローマ・バイオトランサー装置に通すことにより達成できる。かかる処理支持層は、その支持層を皮膚に投与した際に、皮膚コンディションを改善することができる。

表1

ボディブースターミネラルウォーターの組成

アルミニウム	1-10%	モリブデン	0
ビ素	0	ニオブ	0
アンチモン	0	ニッケル	0.01-0.1%
バリウム	0	リン	0
ベリリウム	0.01-0.1%	カリウム	0
ホウ素	0.01-0.1%	ナトリウム	0.1-1.0%
ビスマス	0	ケイ素	0.01-1.0%
カドミウム	0	銀	0
カルシウム	10-100%	ストロンチウム	0.1-1.0%
クロム	0	タンタル	0
コバルト	0	テルル	0
銅	0.01-0.1%	スズ	0
鉄	0.01-0.1%	チタン	0.01-0.1%
鉛	0	タングステン	0
リチウム	0	バナジウム	0
マグネシウム	1-10%	亜鉛	<0.01%
マンガン	1-5%	ジルコニウム	0
水銀	0		

表2

材料	平均DPM		変化%	P値
对照	29666.67			
未処理 Fe H ₂ O	0.10%	30266	2.020225	
	0.50%	28933.33	-2.47191	
	1%	31395	5.825843	
对照	26077.33			
処理 Fe H ₂ O	0.10%	26974.33	3.439769	0.49
	0.50%	30508.67	16.99305	0.02
	1%	33053.33	26.7512	0.03

表3

		dpm	平均dpm	変化%	P値	BB対照からの変化%
BB-対照	1%	105215				
		110134	109543.3	34.19933	0.001	
		113281				
	5%	95021				
		117246	107548.3	31.75529	0.02	
		110378				
	10%	95786				
		99194	98260.33	20.37675	0.001	
		99801				
BB-232	1%	111191				
		125587	123668.3	51.50358	0.003	12.89444
		134227				
	5%	122170				
		110580	117679	44.16617	0.001	9.419641
		120287				
	10%	95146				
		104946	100037	22.55331	0.004	1.808122
		100019				
BB-12007	1%	104023				
		112237	109372.3	34.08511	0.002	-0.1561
		111857				
	5%	109353				
		108673	113090.7	38.64361	0.003	5.153342
		121246				
	10%	106709				

10%	100710	96776.33	18.64304	0.12	-1.51027
	82910				

表4

	dpm	平均dpm	平均%	P値	dpm 最小 平均対照	BB高での P値
対照	36335 30825 30414	32558				
TGF B	51288 58159 49600	53015.67	62.83453	0.003		
	48752 44841 47082	46925	44.1274	0.003	16194 12383 14524	
BB-C	49367 41801 43797	44988.33	38.17804	0.01	16809 9243 11239	
	39432 50542 39763	43245.67	32.82655	0.06	6874 17984 7205	
	41892 45412 48420	45808	40.08231	0.01	9434 13854 15862	0.58
BB-232	45920 44642 50013	46858.33	43.92264	0.005	13352 12084 17455	0.54
	44162 43278 44348	43926.57	34.92434	0.004	11804 10718 11790	0.86
対照	28578 25524 33584	29228.57				
TGF B	51548 57208 55401	54718.33	87.20776	0.001		
	44480 42907 41449	42945.33	46.92881	0.005	15251.33 13678.33 12220.33	0.67
BB-1200.7	45415 52041 45126	47527.33	62.6052	0.005	16186.33 22812.33 15897.33	0.14
	49850 49835 50472	50052.33	71.24398	0.001	20621.33 20606.33 21243.33	0.05

表5

サンプル溶液に曝したNHDF細胞によるコラーゲンの产生

サンプル	pg/ml+/-S.D.	変化%	P値
3249/1 対照塩溶液10%	2.5+/-0.02	4.2	
5%	2.7+/-0.03	12.5	
1%	2.6+/-0.01	8.3	
3249/2 10%	3.0+/-0.06	25	0.02
5%	2.8+/-0.07	17	0.1
1%	2.4+/-0.12	0	0.8
3249/3 10%	2.6+/-0.02	8.3	0.1
5%	2.7+/-0.06	12.5	0.2
1%	2.8+/-0.11	17	0.2
3249/4 10%	2.7+/-0.09	12.5	0.1
5%	2.7+/-0.09	12.5	0.8
3249/5 10%	3.5+/-0.04	46	0.002
5%	3.0+/-0.05	25	0.02
TBF β	3.0+/-0.02	25	
培地対照	2.4+/-0.01		

表6

維持溶液および再調製溶液に曝したNHDF細胞によるコラーゲンの產生

サンプル	コラーゲン ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	変化%	DNA ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	変化%	コラーゲン /DNA	変化%
培地	0.15+/-0.001		6.2+/-0.3		0.024	
M. Pudica	0.18+/-0.008	+20	2.2+/-0.1	-65	0.081	238
对照 塩溶液	0.14+/-0.006		5.0+/-0.11		0.028	
#232- ロッド4 再調製	0.19+/-0.015	+36	4.7+/-0.08	-6	0.040	+43
#232- ロッド4 維持	0.16+/-0.023	+14	3.8+/-0.09	-24	0.042	+50
#232- ロッド1 維持	0.15+/-0.012	+7	4.6+/-0.07	-8	0.033	+18
#232- ロッド2 維持	0.14+/-0.018	0	6.5+/-0.02	+30	0.021	-25
#232- ロッド3 維持	0.15+/-0.015	+7	5.2+/-0.07	+4	0.029	+3
#232- ロッド3 再調製	0.16+/-0.01	+14	4.6+/-0.12	-8	0.035	+25

BQ ロッド BQ- DAT-C4	0.14+/-0.002	0	4.4+/-0.06	-12	0.032	+14
----------------------------	--------------	---	------------	-----	-------	-----

特に開示されていない他の具体例も本発明の範囲ならびに精神に含まれることが当業者には明らかであろう。従って、本明細書の記載は、以下の請求の範囲で記載された以外は、いかようにも本発明を限定するものではないと考えられるべきである。

上に引用した参考文献は全て、出典明示して本明細書の一部とみなされる。

【図1】

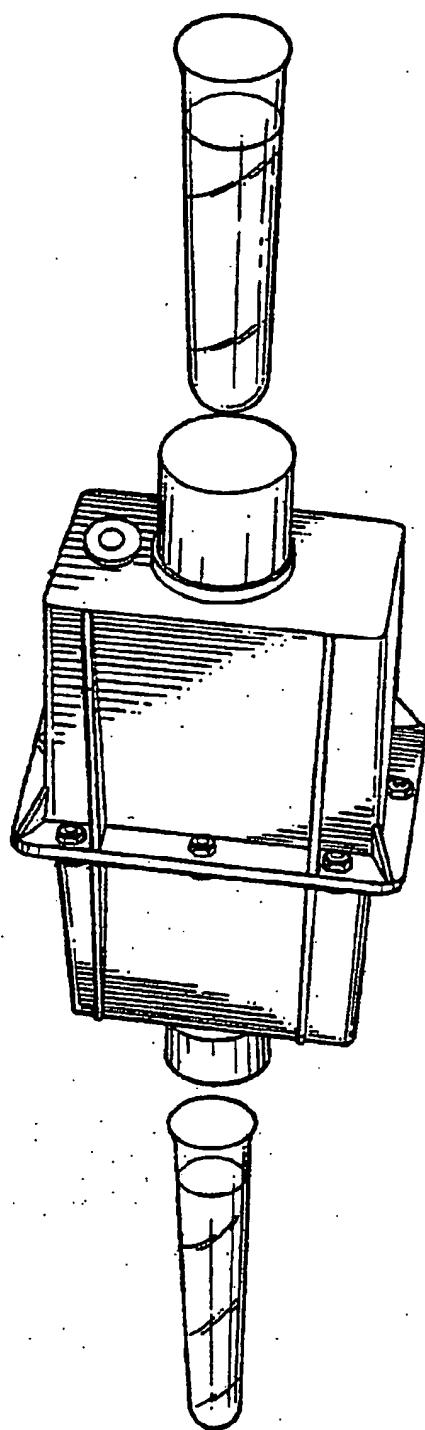


FIG.1

【図2】

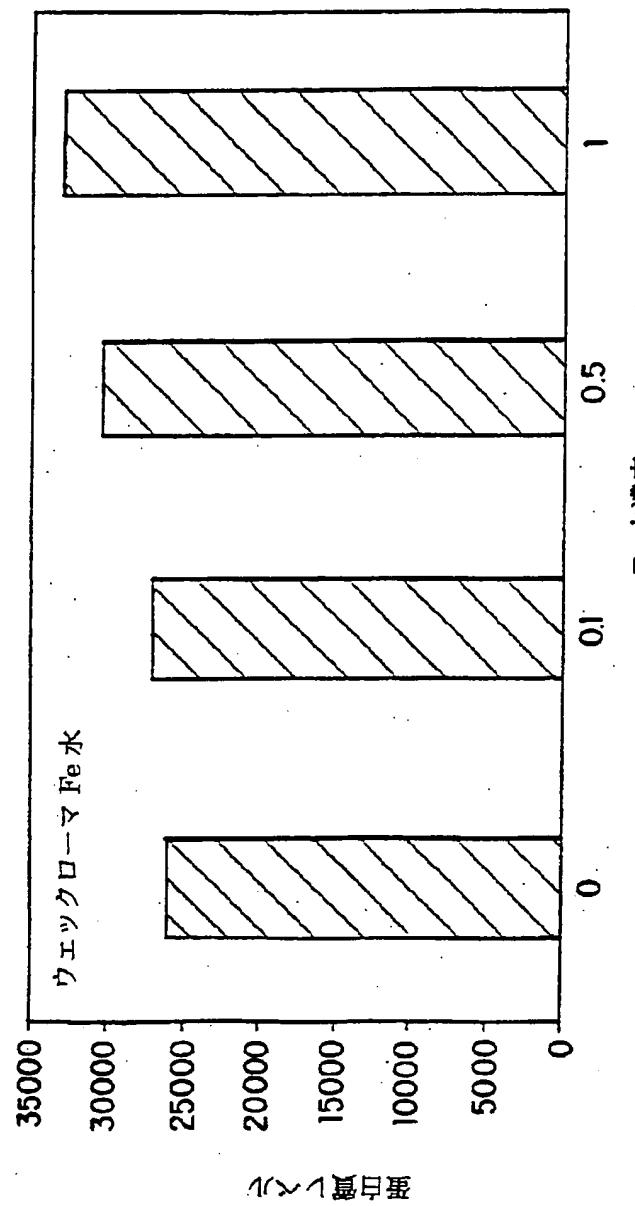


FIG.2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US97/07936
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6) : H01J 37/00 US CL : 250/492.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 250/492.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched NONE		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) NONE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,012,110 A (Kropp) 30 April 1991 (30/04/ 91) see figs. 1-7 and entire document.	1-9, 12
---		-----
Y		10-11,13-16
X	US 5,138,172 A (Kropp) 11 August 1992 (11/08/ 92) see figs. 1-14 and entire document.	1-9, 12
---		-----
Y		10-11,13-16
Y	US 5,247,179 A (Tachibana) 21 September 1993 (21/09/93) , see figs. 1-16 and entire document.	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See parent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "C" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified) "D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "E" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 05 AUGUST 1997		Date of mailing of the international search report 21 AUG 1997
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer KIET T. NGUYEN Telephone No. (703) 308-4855

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L
U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF
, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE,
SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, S
D, SZ, UG), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ
, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AU, AZ
, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU,
CZ, EE, GE, GH, HU, IL, IS, JP, K
G, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV
, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL,
RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, T
T, UA, UZ, VN, YU

(72)発明者 チオカ, ジョルジュ

アメリカ合衆国 11755 ニューヨーク州

レイク ブローブ, ウエスト クリフ

レーン 1

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.